

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2001年5月3日 (03.05.2001)

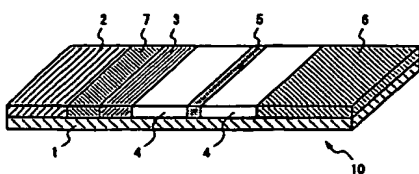
PCT

(10) 国際公開番号  
WO 01/31340 A1

- (51) 国際特許分類: G01N 33/543
- (21) 国際出願番号: PCT/JP00/07447
- (22) 国際出願日: 2000年10月25日 (25.10.2000)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:  
特願平11/302997  
1999年10月25日 (25.10.1999) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 松下電器産業株式会社 (MATSUSHITA ELECTRIC INDUSTRIAL CO., LTD.) [JP/JP]; 〒571-8501 大阪府門真市大字門真1006番地 Osaka (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 高橋三枝 (TAKAHASHI, Mie) [JP/JP]; 〒792-0026 愛媛県新居浜市久保田町2-13-1 Ehime (JP). 瀬岡正剛 (NADAOKA, Masataka) [JP/JP]; 〒799-3113 愛媛県伊予市米湊
- 819-5 Ehime (JP). 田中宏橋 (TANAKA, Hirotaka) [JP/JP]; 〒791-1102 愛媛県松山市来住町533-1-102 Ehime (JP). 中山 浩 (NAKAYAMA, Hiroshi) [JP/JP]; 〒573-1114 大阪府枚方市東山2-24-107 Osaka (JP). 重藤修行 (SHIGETO, Nobuyuki) [JP/JP]; 〒610-0354 京都府京田辺市山手南4-5-1 Kyoto (JP). 北脇文久 (KITAWAKI, Fumihisa) [JP/JP]; 〒571-0064 大阪府門真市御堂町25-3 松幸寮211号 Osaka (JP).
- (74) 代理人: 弁理士 早瀬憲一 (HAYASE, Kenichi); 〒564-0053 大阪府吹田市江の木町17番1号 江坂全日空ビル8階 早瀬特許事務所 Osaka (JP).
- (81) 指定国 (国内): CN, KR, SG, US.
- (84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).
- 添付公開書類:  
— 国際調査報告書
- 2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: IMMUNE CHROMATOGRAPHIC TEST PIECE AND CHROMATOGRAPHIC ANALYSIS METHOD

(54) 発明の名称: 免疫クロマトグラフィー試験片、及びクロマトグラフ分析方法



(57) Abstract: An immune chromatographic test piece which enables accurate qualitative or quantitative analysis of a sample containing color components (for example, blood) without resort to any pretreatment. An immune chromatographic test pieces (10) consists of a cell component disrupting substance-carrying part (7) which carries a substance disrupting cell components; a label-carrying part (3) which carries a labeling reagent; and a specific protein-immobilized part (5) on which a specific protein is immobilized in a domain of a reaction layer (4). By using this immune chromatographic test piece (10), the degree of coloration in the above-described reaction layer (4) is measured at a wavelength of 580 nm or longer, thereby effecting qualitative or quantitative analysis.



---

(57) 要約:

血液などの有色成分を含む試料に対し、前処理を必要せず、また、正確な定性、あるいは定量分析が可能な免疫クロマトグラフィー試験片、及びクロマトグラフ分析方法を提供することを目的とする。

免疫クロマトグラフィー試験片 10 を、細胞成分破壊物質を保持する細胞成分破壊物質保持部位 7 と、標識試薬を保持する標識物保持部位 3 と、反応層 4 の領域中に特異的タンパク質が固定化された特異的タンパク固定化部 5 と、を有する構成とし、上記免疫クロマトグラフィー試験片 10 を用い、上記反応層 4 上の呈色度合を 580 nm 以上の波長で測定することにより、定性、あるいは定量分析する。

## 明 細 書

## 免疫クロマトグラフィー試験片、及びクロマトグラフ分析方法

## 5 技術分野

本発明は、抗原抗体反応を利用して、液体試料を定性あるいは定量分析するための免疫クロマトグラフィー試験片、及びクロマトグラフ分析方法に関し、特に、血液などの有色試料を前処理することなく分析可能なものに関する。

## 10 背景技術

従来より、水質検査や尿検査などの液体試料の化学試験もしくは臨床試験を実施する方法として、抗原抗体反応を利用した免疫クロマトグラフィーによる測定方法が汎用されている。一般にクロマトグラフィーとは、混合物をその構成成分に応じて分離し、同定する方法をいう。クロマトグラフィー試験片は、液体試料を添加する部分と、液体試料の浸透により移動可能であり、かつ、流れてきた液体試料に含まれる分析対象物に対し特異的に結合する物質を備えた標識試薬が保持された部分と、標識試薬と分析対象物との結合反応が行われる部分と、流れてきた試料を吸収する部分とを備える。クロマトグラフィー試験片に液体試料を添加し、放置しておくことにより、一定時間後に発色または変色をともなう呈色反応が起こり、目視的な検出様式によって定性的な判定を行うことができる。

免疫クロマトグラフ分析方法は、抗原抗体反応の特異性を利用して、抗原または抗体を同定し、検出するものである。免疫クロマトグラフィー試験片は、上述の一般のクロマトグラフィー試験片に対し、さらに、液体試料に含まれる分析対象物と標識試薬との複合体に対して、抗原抗体反応を起こす抗体あるいは抗原が固定化された部分を備えたものである。免疫クロマトグラフィー試験片に分析対象物を含む液体試料を添加すると、液体試料により標識試薬が溶解して、浸透方向に展開し、抗体あるいは抗原が固定化された測定領域に所定の呈色が生じる。したがって、測定領域の呈色の有無により、液体試料中に特定の分析対象物が含まれていたか否かを判断することができる。この分析結果は、呈色反応によって

判定されるため、目視的な検出様式によって記録される。このように、免疫クロマトグラフ分析方法は、分析結果の判定が非常に容易であり、さまざまな分析対象物の分析に利用することができる。

5 一般に、免疫クロマトグラフィーによる分析は定性的なものであるが、定量的な分析方法も開発されている。特開平8-240591号公報には、免疫クロマトグラフィー試験片に試料を添加し、反応が行われた後に、検出計器を用いて試験片上の呈色部分の吸収や反射などの信号を測定することにより、呈色度合を定  
10 量化する方法が開示されている。また、特開平8-334511号公報には、呈色した免疫クロマトグラフィー試験片を、イメージセンサを用いて撮像し、画像変換された階調画像を解析処理することにより、呈色度合を定量的に測定する方法が開示されている。

一般的な免疫クロマトグラフィー試験片には、液体試料の浸透速度を機械的に  
15 コントロールする手段がなく、人為的に浸透速度を制御することができないために、上記浸透速度は試験片の浸透性に左右される。この試験片を用いて血液のような細胞成分を含む液体試料を分析する場合、液体試料の粘性や、細胞成分の存在が、反応層担体に目詰まりを生じて液体試料の浸透を妨げ、その結果、測定時間  
20 が大幅に長くなり、この間に液体試料の乾燥等が発生して反応の正確性や定量性能を欠くことになるという問題があった。

また、目視あるいは検出計器を用いて呈色度合を測定する免疫クロマトグラフ  
20 分析方法には、有色試料に含まれる色素、例えば血液成分の持つ血色素（赤色）が、抗原抗体反応によって生じた呈色反応の読み取りを妨げ、定量測定時の感度の低下と、測定誤差とを生じるという問題があった。

上記の問題点を解決するために、従来は、有色試料、特に全血の場合には、予め該試料に含まれる色素、すなわち血色素を含む血球成分を取り除く、遠心分離  
25 等の前処理が必要とされてきた。しかし、そのような前処理を行うことは、免疫クロマトグラフ分析方法を煩雑なものとし、また、コストの上昇と作業性の低下とを招くものであった。

本発明は、かかる問題点に鑑みてなされたものであり、細胞成分等により、液体試料の試験片への浸透が妨げられることを防止し、また、試料に含まれる有色

成分、特に血色素に由来するバックグラウンドの影響を受けずに抗原抗体反応の結果である呈色度合を定量的に読み取り、さらに、添加する液体試料、特に血液に対する遠心分離等の前処理を必要としない、免疫クロマトグラフィー試験片、及びクロマトグラフ分析方法を提供することを目的とする。

5

#### 発明の開示

上記目的を達成するため、請求の範囲第1項にかかる免疫クロマトグラフィー試験片は、有色試料に含まれる分析対象物の定性、あるいは定量分析時に使用する免疫クロマトグラフィー試験片において、標識物それ自体、あるいは標識物が

10 産生する物質が、分析対象物を含む試料の吸収波長と異なる吸収波長を有する、あるいは同じ吸収波長であっても試料の吸収係数よりも十分に高い吸収係数を有する、波長領域を持っているものである。

また、請求の範囲第2項にかかる免疫クロマトグラフィー試験片は、有色試料に含まれる分析対象物の定性、あるいは定量分析時に使用する免疫クロマトグラ

15 フィー試験片において、反応終了後の標識物あるいは、標識物による反応物が、分析対象物を含む試料の吸収波長と異なる吸収波長を有する、あるいは同じ吸収波長であっても試料の吸収係数よりも十分に高い吸収係数を有する、波長領域を持っているものである。

また、請求の範囲第3項にかかる免疫クロマトグラフィー試験片は、請求の範囲第1項または第2項に記載の免疫クロマトグラフィー試験片において、上記試

20 料が血液である場合、上記試験片上に生じた呈色に特異的な吸収波長が580nm以上である、ものである。

また、請求の範囲第4項にかかる免疫クロマトグラフィー試験片は、請求の範囲第1項ないし請求の範囲第3項のいずれか一つに記載の免疫クロマトグラフィー試験片において、上記試料に含まれる細胞成分を破壊する物質を保持する領域

25 を有するものである。

また、請求の範囲第5項にかかる免疫クロマトグラフィー試験片は、請求の範囲第4項に記載の免疫クロマトグラフィー試験片において、細胞成分を破壊する物質が、無機物、界面活性剤、あるいはサポニン類を含むものである。

また、請求の範囲第 6 項にかかる免疫クロマトグラフィー試験片は、請求の範囲第 5 項に記載の免疫クロマトグラフィー試験片において、上記無機物が、塩化物を含むものである。

5 また、請求の範囲第 7 項にかかる免疫クロマトグラフィー試験片は、請求の範囲第 5 項に記載の免疫クロマトグラフィー試験片において、上記界面活性剤が、非極性界面活性剤を含むものである。

10 また、請求の範囲第 8 項にかかる免疫クロマトグラフィー試験片は、請求の範囲第 1 項ないし請求の範囲第 7 項のいずれか一つに記載の免疫クロマトグラフィー試験片において、分光光度計により、呈色度合を定性、あるいは定量分析するものである。

15 また、請求の範囲第 9 項にかかる免疫クロマトグラフィー試験片は、請求の範囲第 1 項ないし請求の範囲第 8 項のいずれか一つに記載の免疫クロマトグラフィー試験片において、上記標識物が、金属ゾル、酸化金属粒子、非金属ゾル、染料ゾル、着色粒子、色素、あるいは酵素から選択される少なくとも一つを含むものである。

また、請求の範囲第 10 項にかかる免疫クロマトグラフィー試験片は、請求の範囲第 1 項ないし請求の範囲第 9 項のいずれか一つに記載の免疫クロマトグラフィー試験片において、上記分析対象物が血漿蛋白質、細菌、ウイルスの少なくとも一つを含むものである。

20 また、請求の範囲第 11 項にかかるクロマトグラフ分析方法は、免疫クロマトグラフィー試験片を用いたクロマトグラフ分析方法において、上記免疫クロマトグラフィー試験片に分析対象物を含む有色試料を添加し、上記試験片上の呈色度合を、上記呈色に特異的な吸収波長において測定する、ことを特徴とし、標識物それ自体、あるいは標識物が産生する物質が、上記分析対象物を含む有色試料の  
25 吸収波長と異なる吸収波長を有する、あるいは同じ吸収波長であっても有色試料の吸収係数よりも十分に高い吸収係数を有する、波長領域を持つものである。

また、請求の範囲第 12 項にかかるクロマトグラフ分析方法は、免疫クロマトグラフィー試験片を用いたクロマトグラフ分析方法において、上記免疫クロマトグラフィー試験片に分析対象物を含む有色試料を添加し、上記試験片上の呈色度

合を、上記呈色に特異的な吸収波長において測定する、ことを特徴とし、反応終了後の標識物、あるいは標識物による反応物が、上記分析対象物を含む試料の吸収波長と異なる吸収波長を有する、あるいは同じ吸収波長であっても試料の吸収係数よりも十分に高い吸収係数を有する、波長領域を持つものである。

- 5      また、請求の範囲第 13 項にかかるクロマトグラフ分析方法は、請求の範囲第 11 項または第 12 項に記載のクロマトグラフ分析方法において、上記試料が血液である場合、呈色領域における標識物からの信号を、580 nm 以上の任意の波長で測定することにより、分析対象物を定性あるいは定量分析するものである。

- 10      また、請求の範囲第 14 項にかかるクロマトグラフ分析方法は、請求の範囲第 11 項ないし請求の範囲第 13 項のいずれか一つに記載のクロマトグラフ分析方法において、上記免疫クロマトグラフィー試験片は、試料中の細胞成分を破壊する物質が保持された領域を含むものである。

- 15      また、請求の範囲第 15 項にかかるクロマトグラフ分析方法は、請求の範囲第 14 項に記載のクロマトグラフ分析方法において、細胞成分を破壊する物質が、無機物、界面活性剤、あるいはサポニン類を含むものである。

また、請求の範囲第 16 項にかかるクロマトグラフ分析方法は、請求の範囲第 15 項に記載のクロマトグラフ分析方法において、上記無機物が、塩化物を含むものである。

- 20      また、請求の範囲第 17 項にかかるクロマトグラフ分析方法は、請求の範囲第 15 項に記載のクロマトグラフ分析方法において、上記界面活性剤が、非極性界面活性剤を含むものである。

また、請求の範囲第 18 項にかかるクロマトグラフ分析方法は、請求の範囲第 11 項ないし請求項 17 のいずれか一つに記載のクロマトグラフ分析方法において、分光光度計により、呈色度合を定性、あるいは定量分析するものである。

- 25      また、請求の範囲第 19 項にかかるクロマトグラフ分析方法は、請求の範囲第 11 項ないし請求の範囲第 18 項のいずれか一つに記載のクロマトグラフ分析方法において、上記標識物が、金属ゾル、酸化金属粒子、非金属ゾル、染料ゾル、着色粒子、色素、あるいは酵素から選択される少なくとも一つを含むものである。

また、請求の範囲第 20 項にかかるクロマトグラフ分析方法は、請求の範囲第

1 1 項ないし請求の範囲第 1 9 項のいずれか一つに記載のクロマトグラフ分析方法において、上記分析対象物が血漿蛋白質、細菌、ウイルスの少なくとも一つを含むものである。

- 請求の範囲第 1 項ないし請求の範囲第 3 項、請求の範囲第 9 項、及び請求の範囲第 1 0 項の免疫クロマトグラフィー試験片によれば、有色試料に含まれる分析対象物の定性、あるいは定量分析時に使用する免疫クロマトグラフィー試験片において、標識物それ自体、あるいは標識物が産生する物質が、分析対象物を含む試料の吸収波長と異なる吸収波長を有する、あるいは同じ吸収波長であっても試料の吸収係数よりも十分に高い吸収係数を有する、波長領域を持っているものとしたことで、有色成分を含む試料の分析において、上記有色成分によるバックグラウンドの影響を受けない呈色度合の定性、あるいは定量分析が可能となり、高感度で、高性能なクロマトグラフ分析を実現できる効果がある。

- 請求の範囲第 4 項ないし請求の範囲第 7 項の免疫クロマトグラフィー試験片によれば、請求の範囲第 1 項ないし請求の範囲第 3 項のいずれか一つに記載の免疫クロマトグラフィー試験片において、上記試料に含まれる細胞成分を破壊する物質を保持する領域を有するものとしたことで、上記請求の範囲第 1 項ないし請求の範囲第 3 項の効果に加え、細胞成分を含む試料の分析時に、上記細胞成分が破壊されて、上記試料の試験片への浸透がスムーズになり、測定時間が短縮され、より正確に定量分析できる効果がある。また、血液など、細胞成分を有する試料に対する遠心分離等の前処理が不要になるため、コストの低下と作業性の向上を実現できる効果もある。

- 請求の範囲第 8 項の免疫クロマトグラフィー試験片によれば、請求の範囲第 1 項ないし請求の範囲第 7 項のいずれか一つに記載の免疫クロマトグラフィー試験片において、分光光度計により、呈色度合を定性、あるいは定量分析するものとしたことで、上記請求の範囲第 1 項ないし請求の範囲第 7 項の効果に加え、反射型分光光度計を用いた場合には、反応層を支持する支持体として不透明な材料を使用することができ、さらに、反応層の裏面状態を気にすることなく測定を行なうことが可能となり、また、透過型分光光度計を用いた場合には、反応層の深部の呈色度合をも測定することが可能となり、高感度で、高性能な定性、あるいは



定量分析が可能となる効果がある。

- 請求の範囲第 1 1 項ないし請求の範囲第 1 3 項、請求の範囲第 1 9 項、及び請求の範囲第 2 0 項のクロマトグラフ分析方法によれば、免疫クロマトグラフィー試験片を用いたクロマトグラフ分析方法において、上記免疫クロマトグラフィー
- 5 試験片に分析対象物を含む有色試料を添加し、上記試験片上の呈色度合を、上記呈色に特異的な吸収波長において測定する、ことを特徴とし、標識物それ自体、あるいは標識物が産生する物質が、上記分析対象物を含む有色試料の吸収波長と異なる吸収波長を有する、あるいは同じ吸収波長であっても有色試料の吸収係数よりも十分に高い吸収係数を有する、波長領域を持つものとしたことで、有色成分を含む試料の分析において、上記有色成分によるバックグラウンドの影響を受けない呈色度合の定性、あるいは定量分析が可能となり、高感度で、高性能なクロマトグラフ分析を実現できる効果がある。
- 10

- 請求の範囲第 1 4 項ないし請求の範囲第 1 7 項のクロマトグラフ分析方法によれば、請求の範囲第 1 1 項ないし請求の範囲第 1 3 項のいずれか一つに記載のクロマトグラフ分析方法において、上記免疫クロマトグラフィー試験片は、試料中の細胞成分を破壊する物質が保持された領域を含むものとしたことで、上記請求の範囲第 1 1 項ないし請求の範囲第 1 3 項の効果に加え、細胞成分を含む試料の分析時に、上記細胞成分が破壊されて、上記試料の試験片への浸透がスムーズになり、測定時間が短縮され、より正確に定量分析できる効果がある。また、血液
- 15
- 20 など、細胞成分を有する試料に対する遠心分離等の前処理が不要になるため、コストの低下と作業性の向上を実現できる効果もある。

- 請求の範囲第 1 8 項のクロマトグラフ分析方法によれば、請求の範囲第 1 1 項ないし請求の範囲第 1 7 項のいずれか一つに記載のクロマトグラフ分析方法において、分光光度計により、呈色度合を定性、あるいは定量分析するものとしたことで、上記請求の範囲第 1 1 項ないし請求の範囲第 1 7 項の効果に加え、反射型分光光度計を用いた場合には、反応層を支持する支持体として不透明な材料を使用することができ、さらに、反応層の裏面状態を気にすることなく測定を行なうことが可能となり、また、透過型分光光度計を用いた場合には、反応層の深部の呈色度合をも測定することが可能となり、高感度で、高性能な定性、あるいは定
- 25

量分析が可能となる効果がある。

#### 図面の簡単な説明

第1図は、本発明の実施の形態1による免疫クロマトグラフィー試験片を示す  
5 図である。

第2図は、本発明の実施の形態2による免疫クロマトグラフィー試験片を示す  
図である。

第3図は、本発明の実施例による呈色領域を520nmの波長で測定した場合  
(a)と、610nmの波長で測定した場合(b)との定量性能を示す図である。

10

発明を実施するための最良の形態

実施の形態1.

以下、本発明の実施の形態1による免疫クロマトグラフィー試験片、及びクロ  
マトグラフ分析方法について、図面を参照しながら説明する。

15 第1図は、本実施の形態1による免疫クロマトグラフィー試験片10を示す図  
である。

第1図において、免疫クロマトグラフィー試験片10は、反応層担体支持体1  
と、試料添加部2と、標識物保持部位3と、反応層4と、特異的タンパク固定化  
部5と、吸水部6とを備える。

20 反応層担体支持体1は、液体不透過性のプラスチックなどからなり、クロマト  
グラフィー材料を支持する。試料添加部2は、吸収性の大きい不織布などからな  
り、液体試料が添加あるいは塗布される。標識物保持部位3は、不織布などに溶  
解可能なように標識試薬を保持する。反応層4は、ニトロセルロースなどからな  
る。特異的タンパク固定化部5は、反応層4の領域上に、反応形式にあわせて、  
25 抗体あるいは抗原のような分析対象物に対して特異的に結合反応する特異的タン  
パク質を固定化する。吸水部6は、液体試料を最終的に吸収する。以上、試料添  
加部2、標識物保持部位3、反応層4、特異的タンパク固定化部5、及び吸水部  
6は、反応層担体支持体1の上部に形成されている。標識試薬、及び特異的タン  
パク質は、分析する試料、及び分析対象物に合わせて適切なものを選択する必要

がある。

なお、標識物が産生する物質とは、例えば標識物が特異的タンパク固定化部 5 に産生する、発光が可能な物質であり、反応終了後の標識物とは、例えば呈色反応により呈色した後の標識物であり、標識物による反応物とは、例えば標識物が  
5 酵素である場合に、その標識物が固定化された特異的タンパク固定化部 5 に基質を加えることなどにより呈色した後の物質である。その標識物保持部位 3 に保持される標識試薬としては、染料ゾル、水溶性色素、金コロイドなどの金属ゾル、セレンウムや炭素などの非金属ゾル、フェライトなどの酸化金属粒子、ラテックスなどの着色粒子、あるいは、酵素など、あるいはこれらと、分析対象物と特異的  
10 的に結合する物質との複合体を用いる。

また、第 1 図の免疫クロマトグラフィー試験片 10 の構造は一例であり、クロマトグラフィーを行う構造であればいかなる構造をとってもよく、使用する部材も任意の担体や試薬によって構成されていてもよい。

また、免疫クロマトグラフィー試験片 10 としては、ニトロセルロースやガラス  
15 ス繊維濾紙のような、任意の多孔質性担体で構成されたクロマトグラフィー材料からなる試験片が用いられる。

次に、本実施の形態 1 による免疫クロマトグラフィー試験片 10、及びクロマトグラフ分析方法について説明する。

第 1 図において、液体試料が試料添加部 2 に添加されると、試料添加部 2 に浸  
20 透し、標識物保持部位 3 に達する。次に、標識物保持部位 3 の領域に保持された標識試薬が、液体試料の浸透により溶解され、液体試料とともに反応層 4 に浸透する。反応層 4 の領域上には、特異的タンパク質が固定化された特異的タンパク固定化部 5 がある。液体試料が分析対象物を含む場合は、特異的タンパク質が分析対象物と標識試薬との複合体に対して抗原抗体反応を起こし、特異的タンパク  
25 固定化部 5 の領域に何らかの呈色反応が見られる。液体試料が分析対象物を含まない場合は、抗原抗体反応は起こらず、呈色反応も見られない。最終的に、液体試料は吸水部 6 に吸収され、反応は終了する。

上記反応終了後に、任意の検出計器を用いて、呈色領域における標識物からの信号を測定する。試料が全血の場合は、例えば 580 nm 以上の任意の波長にお

いて測定することが好ましい。これにより、呈色の有無と、呈色度合との定性的、あるいは定量的分析を行なうことができる。上記分析により、液体試料が分析対象物を含むか否かを検知することができ、また、含む場合にはその分量を測定することができる。なお、上述の「標識物からの信号」とは、具体的には、それ自体着色物である標識物の色、UVの照射あるいは電圧の印加等による発光、あるいは呈色反応による呈色などを意味する。

また、呈色領域における標識物からの信号の測定においては、任意の一波長で吸光度あるいは吸光度分布の積分値を測定する場合の他、任意の幅を持った波長領域で吸光度を測定してもよく、その場合には吸光度を特定の波長領域で積分し、

以上のように、本実施の形態1による免疫クロマトグラフィー試験片、及びクロマトグラフ分析方法によれば、免疫クロマトグラフィー試験片10上の呈色領域における標識物からの信号を、例えば580nm以上の任意の波長で測定することにより、有色成分、特に血液中の血色素を含む試料の分析において、血液の吸収波長である200～580nm以外の波長で呈色度合を測定することになる。したがって、液体試料に含まれる有色成分、特に血色素によるバックグラウンドの影響を受けない呈色度合の定性的、あるいは定量的測定を行うことが可能となり、測定誤差を低減でき、より高感度で、より高性能な免疫クロマトグラフィーによる定性、あるいは定量分析を実現できる効果がある。また、使用する標識試薬によっては、有色試料の目視によるクロマトグラフ定性分析も可能となる。

なお、本実施の形態1では、測定形式が標識物複合体と分析対象物との結合反応と、この反応体と固定化物との結合反応からなるサンドイッチ反応を例に説明したが、分析対象物と標識物複合体が競争的に固定化物と反応する競合反応でも測定が可能である。

また、本実施の形態1では、試料が全血の場合には、標識物からの信号を580nm以上の任意の波長で測定するとしたが、好ましくは、580nmから700nmの間の任意の波長にて測定を行なう。

また、本実施の形態1のクロマトグラフ分析方法では、免疫クロマトグラフィー試験片10の呈色度合を測定する検出計器として、例えば、反射型分光光度計

を用いることも可能であり、本実施の形態 1 と同様の効果に加え、反応層 4 を支持する反応層担体支持体 1 として不透明な材料を使用することが可能となるため、材料選択の幅が広がり、さらに、反応層 4 の裏面状態を気にすることなく測定することが可能となる効果がある。

- 5      また、本実施の形態 1 のクロマトグラフ分析方法では、免疫クロマトグラフィー試験片 10 の呈色度合を測定する検出計器として、例えば、透過型分光光度計を用いることも可能であり、本実施の形態 1 と同様の効果に加え、反応層 4 の深部の呈色度合をも測定することが可能となるため、より高感度で、より高性能な定性、あるいは定量分析が可能となる効果がある。また、標識試薬として、低濃度
- 10    度のものを用いることが可能となる。

また、本実施の形態 1 では、有色成分を含む試料として、特に血液を用いたが、これは一例であって、血液以外の有色成分を含む試料も分析可能である。例えば、尿、便潜血、食品の破碎液などが挙げられる。この場合、分析する試料、及び分析対象物に合わせて、標識試薬、及び特異的タンパク質を選択する必要がある。

- 15    すなわち、呈色反応に特異的な波長での吸収係数が、試料の同じ波長での吸収係数より、十分に高いものである必要がある。また、検出計器による呈色度合の測定においては、呈色反応に特異的な波長で測定すればよい。なお、上述の「特異的な波長」とは、有色試料が持つ最大波長領域を除く、任意の一波長、もしくは、任意の幅を持った広範な波長領域を意味する。また、上述の「十分に高い」とは、
- 20    呈色反応による標識物からの信号が、定性、あるいは定量分析に対して信頼できる結果が得られる程度に高いことを意味する。

実施の形態 2.

以下、本発明の実施の形態 2 による免疫クロマトグラフィー試験片、及びクロマトグラフ分析方法について、図面を参照しながら説明する。

- 25    第 2 図は、本実施の形態 2 による免疫クロマトグラフィー試験片 10 を示す図である。

第 2 図において、免疫クロマトグラフィー試験片 10 は、反応層担体支持体 1 と、試料添加部 2 と、標識物保持部位 3 と、反応層 4 と、特異的タンパク固定化部 5 と、吸水部 6 と、細胞成分破壊物質保持部位 7 とを備える。

反応層担体支持体 1 は、液体不透過性のプラスチックなどからなり、クロマトグラフィー材料を支持する。試料添加部 2 は、吸収性の大きい不織布などからなり、液体試料が添加あるいは塗布される。標識物保持部位 3 は、不織布などに溶解可能なように標識試薬を保持する。反応層 4 は、ニトロセルロースなどからなる。特異的タンパク固定化部 5 は、反応層 4 の領域上に、反応形式にあわせて、抗体あるいは抗原のような分析対象物に対して特異的に結合反応する特異的タンパク質を固定化する。吸水部 6 は、液体試料を最終的に吸収する。細胞成分破壊物質保持部位 7 は、細胞成分を破壊する物質を保持する。以上、試料添加部 2、標識物保持部位 3、反応層 4、特異的タンパク固定化部 5、吸水部 6、及び細胞成分破壊物質保持部位 7 は、反応層担体支持体 1 の上部に形成されている。標識試薬、及び特異的タンパク質、及び細胞成分破壊物質は、分析する試料、及び分析対象物に合わせて適切なものを選択する必要がある。

なお、標識物が産生する物質とは、例えば標識物が特異的タンパク固定化部 5 に産生する、発光が可能な物質であり、反応終了後の標識物とは、例えば呈色反応により呈色した後の標識物であり、標識物による反応物とは、例えば標識物が酵素である場合に、その標識物が固定化された特異的タンパク固定化部 5 に基質を加えることなどにより呈色した後の物質である。その標識物保持部位 3 に保持される標識試薬としては、染料ゾル、水溶性色素、金コロイドなどの金属ゾル、セレンウムや炭素などの非金属ゾル、フェライトなどの酸化金属粒子、ラテックスなどの着色粒子、あるいは、酵素など、あるいはこれらと、分析対象物と特異的に結合する物質との複合体を用いる。

また、細胞成分破壊物質保持部位 7 に保持される細胞成分破壊物質としては、塩化ナトリウムあるいは塩化カリウムなどの塩化物、トライトン系あるいはツイーン系などの非極性界面活性剤、極性界面活性剤、あるいはサポニン類などを使用する。

また、第 2 図の免疫クロマトグラフィー試験片 10 の構造は一例であり、細胞成分破壊物質保持部位 7 を含んだ、クロマトグラフィーを行う構造であればいかなる構造をとってもよく、使用する部材も任意の担体や試薬によって構成されていてもよい。

また、免疫クロマトグラフィー試験片 10 としては、ニトロセルロースやガラス繊維濾紙のような、任意の多孔質性担体で構成されたクロマトグラフィー材料からなる試験片が用いられる。

次に、本実施の形態 2 による免疫クロマトグラフィー試験片 10、及びクロマトグラフ分析方法について説明する。

第 2 図において、液体試料が試料添加部 2 に添加されると、試料添加部 2 に浸透して細胞成分破壊物質保持部位 7 の領域に達し、この領域に含まれる細胞成分破壊物質の作用により、液体試料中の細胞成分が破壊される。この細胞成分の破壊された液体試料が、標識物保持部位 3 に達する。次に、標識物保持部位 3 の領域に保持された標識試薬が、液体試料の浸透により溶解され、液体試料とともに反応層 4 に浸透する。反応層 4 の領域上には、特異的タンパク質が固定化された特異的タンパク固定化部 5 がある。液体試料が分析対象物を含む場合は、特異的タンパク質が分析対象物と標識試薬との複合体に対して抗原抗体反応を起こし、特異的タンパク固定化部 5 の領域に何らかの呈色反応が見られる。液体試料が分析対象物を含まない場合は、抗原抗体反応は起こらず、呈色反応も見られない。最終的に、液体試料は吸水部 6 に吸収され、反応は終了する。

上記反応終了後に、任意の検出計器を用いて、呈色領域における標識物からの信号を測定する。試料が全血の場合は、例えば 580 nm 以上の任意の波長において測定することが好ましい。これにより、呈色の有無と、呈色度合との定性的、あるいは定量的分析を行なうことができる。上記分析により、液体試料が分析対象物を含むか否かを検知することができ、また、含む場合にはその分量を測定することができる。なお、上述の「標識物からの信号」とは、具体的には、それ自体着色物である標識物の色、UV の照射あるいは電圧の印加等による発光、あるいは呈色反応による呈色などを意味する。

また、呈色領域における標識物からの信号の測定においては、任意の一波長で吸光度あるいは吸光度分布の積分値を測定する場合の他、任意の幅を持った波長領域で吸光度を測定してもよく、その場合には吸光度を特定の波長領域で積分し、定量分析することも可能である。

以上のように、本実施の形態 2 による免疫クロマトグラフィー試験片、及びク

ロマトグラフ分析方法によれば、免疫クロマトグラフィー試験片 10 上の呈色領域における標識物からの信号を、例えば 580 nm 以上の任意の波長で測定することにより、有色成分、特に血液中の血色素を含む試料の分析において、血液の吸収波長である 200～580 nm 以外の波長で呈色度合を測定することになる。

- 5   したがって、液体試料に含まれる有色成分、特に血色素によるバックグラウンドの影響を受けない呈色度合の定性的、あるいは定量的測定を行うことが可能となり、測定誤差を低減でき、より高感度で、より高性能な免疫クロマトグラフィーによる定性、あるいは定量分析を実現できる効果がある。

- 10   また、細胞成分を破壊する物質を保持する部分を設けたことで、細胞成分を含む液体試料の分析時に、細胞成分が破壊され反応層 4 上の浸透がスムーズになり、測定時間が短縮され、より正確に定量分析できる効果がある。さらに、血液など、細胞成分を有する試料に対する遠心分離等の前処理が不要になるため、コストの低下と作業性の向上を実現できる効果もある。

- 15   また、使用する標識試薬によっては、有色試料の目視によるクロマトグラフ定性分析も可能となる。

なお、本実施の形態 2 では、測定形式が標識物複合体と分析対象物との結合反応と、この反応体と固定化物との結合反応からなるサンドイッチ反応を例に説明したが、分析対象物と標識物複合体が競争的に固定化物と反応する競合反応でも測定が可能である。

- 20   また、本実施の形態 2 では、試料が全血の場合には、標識物からの信号を 580 nm 以上の任意の波長で測定するとしたが、好ましくは、580 nm から 700 nm の間の任意の波長にて測定を行なう。

- 25   また、本実施の形態 2 のクロマトグラフ分析方法では、免疫クロマトグラフィー試験片 10 の呈色度合を測定する検出計器として、例えば、反射型分光光度計を用いることも可能であり、本実施の形態 2 と同様の効果に加え、反応層 4 を支持する反応層担体支持体 1 として不透明な材料を使用することが可能となるため、材料選択の幅が広がり、さらに、反応層 4 の裏面状態を気にすることなく測定することが可能となる効果がある。

また、本実施の形態 2 のクロマトグラフ分析方法では、免疫クロマトグラフィー



一試験片10の呈色度合を測定する検出計器として、例えば、透過型分光光度計を用いることも可能であり、本実施の形態2と同様の効果に加え、反応層4の深部の呈色度合をも測定することが可能となるため、より高感度で、より高性能な定性、あるいは定量分析が可能となる効果がある。また、標識試薬として、低濃度5のものをを用いることが可能となる。

また、本実施の形態2では、有色成分、及び細胞成分を含む試料として、特に血液を用いたが、これは一例であって、血液以外の有色成分、及び細胞成分を含む試料も分析可能である。例えば、体液、細菌を含む液体、食品の破碎液などが挙げられる。この場合、分析する試料、及び分析対象物に合わせて、標識試薬、及び抗体を選択する必要がある。すなわち、呈色反応に特異的な波長での吸収係数が、試料の同じ波長での吸収係数より、十分に高いものである必要がある。また、検出計器による呈色度合の測定においては、呈色反応に特異的な波長で測定すればよい。なお、上述の「特異的な波長」とは、有色試料が持つ最大波長領域を除く、任意の一波長、もしくは、任意の幅を持った広範な波長領域を意味する。また、上述の「十分に高い」とは、呈色反応による標識物からの信号が、定性、あるいは定量分析に対して信頼できる結果が得られる程度に高いことを意味する。

実施例

以下の実施例により、本発明を実施する方法をさらに詳細に説明する。なお、本発明は、以下の実施例になんら制約されるものではない。

#### 20 (血液中hCGの定量)

ニトロセルロース膜中に抗hCG- $\beta$ 抗体固定化ライン、及び抗hCG- $\alpha$ 抗体と金コロイドとの複合体の広いバンドを含む免疫クロマトグラフィー試験片を製造した。この試験片を第2図に示す。図中、試験片は、抗体固定化部5と、それよりも前にある抗hCG- $\alpha$ 抗体と金コロイドとの複合体が含有された領域である標識物保持部位3と、試料添加部2とを含む。これらの試験片は、次のよう25にして製造した。

##### 実施例1.

##### クロマトグラフィー試験片の調製

リン酸緩衝溶液にて希釈して濃度調整をした抗hCG- $\beta$ 抗体溶液を準備した。

この抗体溶液を溶液吐出装置を用いて、ニトロセルロース膜上に塗布した。これにより、ニトロセルロース膜上に検出用の抗体固定化ラインが得られた。このニトロセルロース膜を乾燥後、1%スキムミルクを含有するT r i s-HC l 緩衝溶液中に浸漬して30分間緩やかに振った。30分後、T r i s-HC l 緩衝溶

5 液槽に膜を移動し、10分間緩やかに振った後に、別のT r i s-HC l 緩衝溶

液槽にてさらに10分間緩やかに振り、膜の洗浄を行なった。2度洗浄を行った後に、膜を洗浄液から取り出して、室温で乾燥させた。

金コロイドは、0.01%塩化金酸の還流中の100℃溶液に1%クエン酸溶

液を加えることによって調製した。還流を30分間続けた後に、冷却した。0.

- 10 2Mの炭酸カリウム溶液によって、pH9に調製した前記金コロイド溶液に、抗
- hCG- $\alpha$ 抗体を加えて数分間攪拌した後に、10%BSA(牛血清アルブミン)
- 溶液pH9を最終1%になる量だけ加えて攪拌することで、抗体金コロイド複合
- 体(標識抗体)を調製した。前記標識抗体溶液を4℃、20000Gで50分間
- 15 遠心分離することによって、標識抗体を単離して、それを洗浄緩衝液(1%BS
- A・リン酸緩衝液)中に懸濁した後に、前記遠心分離を行って、標識抗体を洗浄
- 単離した。この標識抗体を洗浄緩衝液で懸濁して、0.8 $\mu$ mのフィルタにて濾
- 過した後に、当初の金コロイド溶液量の10分の1に調製して、4℃で貯蔵した。

前記標識抗体溶液を溶液吐出装置にセットして、抗hCG- $\beta$ 抗体固定化乾燥

膜上の抗体固定化位置から離れた位置に塗布した後に、膜を乾燥させた。これに

- 20 よって、固定化膜上に標識抗体保持部位が得られた。

こうして調製された標識抗体保持部位を含む抗体固定化膜を、反応層担体支持

体上に貼付け、溶血剤として界面活性剤を含浸した後に乾燥させた不織布を試料

添加部として、ガラス繊維ろ紙を吸水部として、付け加えてから0.5cm幅の

細片に切断して、試験片を作製した。

- 25 実施例2.

#### 試料の調製

抗凝固剤としてヘパリンを加えた人の血液をヘマトクリット値45%になるよ

うに調製した。この血液に既知濃度のhCG溶液を加えることにより、さまざま

な既知濃度のhCG溶液を調製した。

## 実施例 3.

## 吸光度を測定する波長の検討

試験片上の試料添加部に hCG を含む血液を  $200\ \mu\text{l}$  以上添加して、吸水部方向へと展開処理して、抗原抗体反応をさせて抗体固定化部における呈色反応を行った。この試験片への試料添加から 5 分後の呈色状況を反射型分光光度計 (CS9300; 島津製作所製) を用いて計測して、呈色度を演算処理した。

0、100、1000、10000 U/l の hCG を含有する血液 (ヘマトクリット値 45%) を試験片に添加して展開処理した。各 hCG 濃度の血液に対する試験片上の抗体固定化部の呈色状況を反射型分光光度計で測定した。520 nm と 610 nm の波長における吸光度を計測して、予め作成しておいた hCG 濃度と吸光度との関係を示す検量線に代入した。その結果を第 3 図に示す。本来、例えば 1000 U/l の hCG を含有する血液の吸光度を計測し、その吸光度を検量線に代入すると、hCG 濃度は 1000 U/l となるはずであるが、実際には、少しずれる。そのずれの大きさにより、その測定の正確さを知ることができる。

第 3 図は、クロマトグラフィー定量測定における吸光度を、520 nm の波長で測定した場合 (a) と、610 nm の波長で測定した場合 (b) との定量性能を示す図である。横軸は、試験片に添加した試料の hCG 濃度を表す。縦軸は、試験片上の呈色領域における標識物からの信号を検量線に代入して求めた抗原濃度の換算値を表す。

以下、クロマトグラフィー定量測定において、580 nm 以下の波長で測定した場合と、580 nm 以上の波長で測定した場合とについて、その効果を説明する。

第 3 図において、免疫クロマトグラフィー試験片に液体試料を添加し、5 分後の呈色度合の測定値をもとに、分析対象物の濃度を換算した結果を表している。この際に使用した標識試薬は、(a)、(b) 共に同じ抗体-金コロイド複合体を使用している。まず、610 nm で測定した場合 (第 3 (b) 図) は、CV 値 (変動係数) が 0~15% であるのに対して、520 nm で測定した場合 (第 3 (a) 図) は、血球色素の影響を受け、CV 値が 35~45% と、大きなばらつきを示

し、定量性能が悪いことがわかる。

本実施例では、金コロイドを標識物として用いて結果を説明したが、金コロイドは580 nm以上の波長での吸収を持つ粒径が好ましい。また、それ以外の標識物では、着色粒子や水溶性色素であれば、着色された色素の最大吸収波長、例えば、青色粒子または青色色素であれば650 nm周辺の波長で、カーボンブラックであれば、580 nm以上の任意の波長で測定を行なうことが望ましく、測定波長はその反応呈色物の持つ吸収波長に由来する。

#### 産業上の利用可能性

- 10 本発明は、抗原抗体反応を利用して、液体試料を定性あるいは定量分析するためのクロマトグラフ分析を行うにあたり、標識物それ自体、あるいは標識物が産生する物質が、分析対象物を含む試料の吸収波長と異なる吸収波長を有する、あるいは同じ吸収波長であっても試料の吸収係数よりも十分に高い吸収係数を有する、波長領域を持たせることで、血液などの有色試料を前処理することなく分析
- 15 可能とすることができる。

## 請求の範囲

1. 有色試料に含まれる分析対象物の定性、あるいは定量分析時に使用する免疫クロマトグラフィー試験片において、

- 5 標識物それ自体、あるいは標識物が産生する物質が、分析対象物を含む試料の吸収波長と異なる吸収波長を有する、あるいは同じ吸収波長であっても試料の吸収係数よりも十分に高い吸収係数を有する、波長領域を持っていることを特徴とする免疫クロマトグラフィー試験片。

2. 有色試料に含まれる分析対象物の定性、あるいは定量分析時に使用する免疫クロマトグラフィー試験片において、

反応終了後の標識物、あるいは標識物による反応物が、分析対象物を含む試料の吸収波長と異なる吸収波長を有する、あるいは同じ吸収波長であっても試料の吸収係数よりも十分に高い吸収係数を有する、波長領域を持っていることを特徴とする免疫クロマトグラフィー試験片。

- 15 3. 請求の範囲第1項または第2項に記載の免疫クロマトグラフィー試験片において、

上記試料が血液である場合、上記試験片上に生じた呈色に特異的な吸収波長が580nm以上であることを特徴とする免疫クロマトグラフィー試験片。

- 20 4. 請求の範囲第1項ないし請求の範囲第3項のいずれか一つに記載の免疫クロマトグラフィー試験片において、

上記試料に含まれる細胞成分を破壊する物質を保持する領域を有することを特徴とする免疫クロマトグラフィー試験片。

5. 請求の範囲第4項に記載の免疫クロマトグラフィー試験片において、

- 細胞成分を破壊する物質が、無機物、界面活性剤、あるいはサポニン類を含むことを特徴とする免疫クロマトグラフィー試験片。

- 25 6. 請求の範囲第5項に記載の免疫クロマトグラフィー試験片において、

上記無機物が、塩化物を含むことを特徴とする免疫クロマトグラフィー試験片。

7. 請求の範囲第5項に記載の免疫クロマトグラフィー試験片において、

上記界面活性剤が、非極性界面活性剤を含むことを特徴とする免疫クロマトグ

ラフィー試験片。

8. 請求の範囲第1項ないし請求の範囲第7項のいずれか一つに記載の免疫クロマトグラフィー試験片において、

分光光度計により、呈色度合を定性、あるいは定量分析することを特徴とする

5 免疫クロマトグラフィー試験片。

9. 請求の範囲第1項ないし請求の範囲第8項のいずれか一つに記載の免疫クロマトグラフィー試験片において、

上記標識物が、金属ゾル、酸化金属粒子、非金属ゾル、染料ゾル、着色粒子、色素、あるいは酵素から選択される少なくとも一つを含むことを特徴とする免疫  
10 クロマトグラフィー試験片。

10. 請求の範囲第1項ないし請求の範囲第9項のいずれか一つに記載の免疫クロマトグラフィー試験片において、

上記分析対象物が血漿蛋白質、細菌、ウイルスの少なくとも一つを含むことを特徴とする免疫クロマトグラフィー試験片。

15 11. 免疫クロマトグラフィー試験片を用いたクロマトグラフ分析方法において、

上記免疫クロマトグラフィー試験片に分析対象物を含む有色試料を添加し、  
上記試験片上の呈色度合を、上記呈色に特異的な吸収波長において測定する、  
ことを特徴とし、

20 標識物それ自体、あるいは標識物が産生する物質が、上記分析対象物を含む有色試料の吸収波長と異なる吸収波長を有する、あるいは同じ吸収波長であっても有色試料の吸収係数よりも十分に高い吸収係数を有する、波長領域を持つことを特徴とするクロマトグラフ分析方法。

25 12. 免疫クロマトグラフィー試験片を用いたクロマトグラフ分析方法において、

上記免疫クロマトグラフィー試験片に分析対象物を含む有色試料を添加し、  
上記試験片上の呈色度合を、上記呈色に特異的な吸収波長において測定する、  
ことを特徴とし、

反応終了後の標識物、あるいは標識物による反応物が、上記分析対象物を含む

試料の吸収波長と異なる吸収波長を有する、あるいは同じ吸収波長であっても試料の吸収係数よりも十分に高い吸収係数を有する、波長領域を持つことを特徴とするクロマトグラフ分析方法。

13. 請求の範囲第11項または第12項に記載のクロマトグラフ分析方法において、

上記試料が血液である場合、呈色領域における標識物からの信号を、580 nm以上の任意の波長で測定することにより、分析対象物を定性あるいは定量分析することを特徴とするクロマトグラフ分析方法。

14. 請求の範囲第11項ないし請求の範囲第13項のいずれか一つに記載のクロマトグラフ分析方法において、

上記免疫クロマトグラフィー試験片は、試料中の細胞成分を破壊する物質が保持された領域を含むことを特徴とするクロマトグラフ分析方法。

15. 請求の範囲第14項に記載のクロマトグラフ分析方法において、細胞成分を破壊する物質が、無機物、界面活性剤、あるいはサポニン類を含むことを特徴とするクロマトグラフ分析方法。

16. 請求の範囲第15項に記載のクロマトグラフ分析方法において、上記無機物が、塩化物を含むことを特徴とするクロマトグラフ分析方法。

17. 請求の範囲第15項に記載のクロマトグラフ分析方法において、上記界面活性剤が、非極性界面活性剤を含むことを特徴とするクロマトグラフ分析方法。

18. 請求の範囲第11項ないし請求の範囲第17項のいずれか一つに記載のクロマトグラフ分析方法において、

分光光度計により、呈色度合を定性、あるいは定量分析することを特徴とするクロマトグラフ分析方法。

19. 請求の範囲第11項ないし請求の範囲第18項のいずれか一つに記載のクロマトグラフ分析方法において、

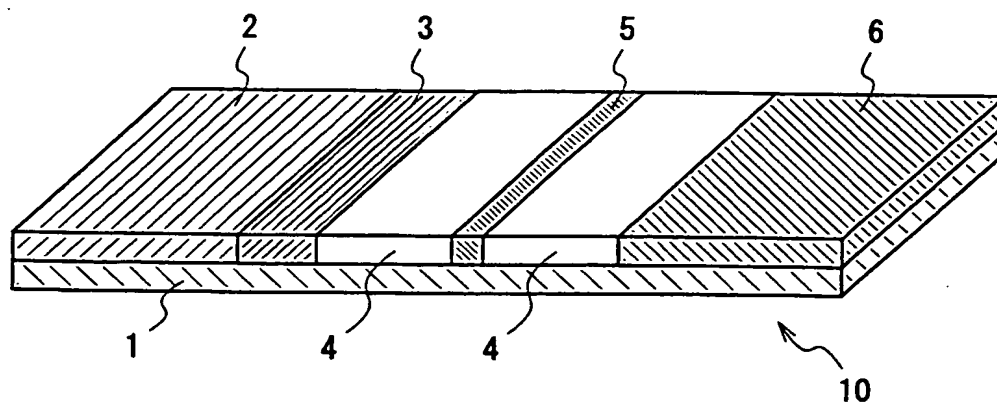
上記標識物が、金属ゾル、酸化金属粒子、非金属ゾル、染料ゾル、着色粒子、色素、あるいは酵素から選択される少なくとも一つを含むことを特徴とするクロマトグラフ分析方法。

20. 請求の範囲第11項ないし請求の範囲第19項のいずれか一つに記載のクロマトグラフ分析方法において、

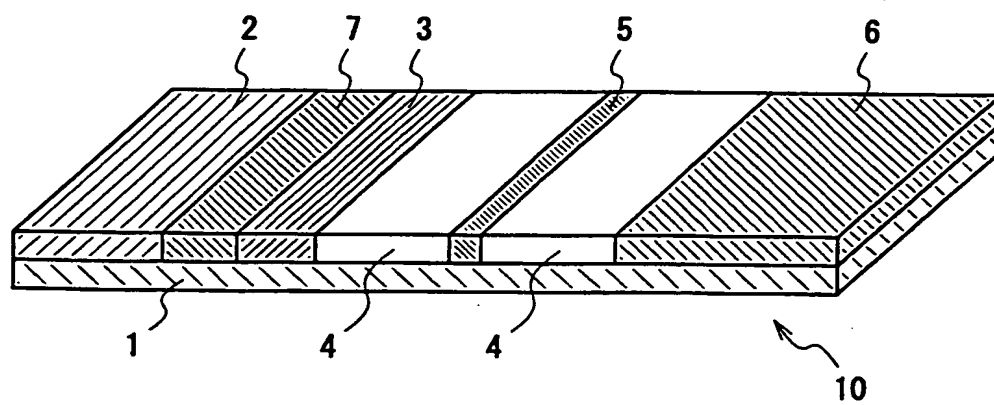
上記分析対象物が血漿蛋白質、細菌、ウイルスの少なくとも一つを含むことを特徴とするクロマトグラフ分析方法。



第1図

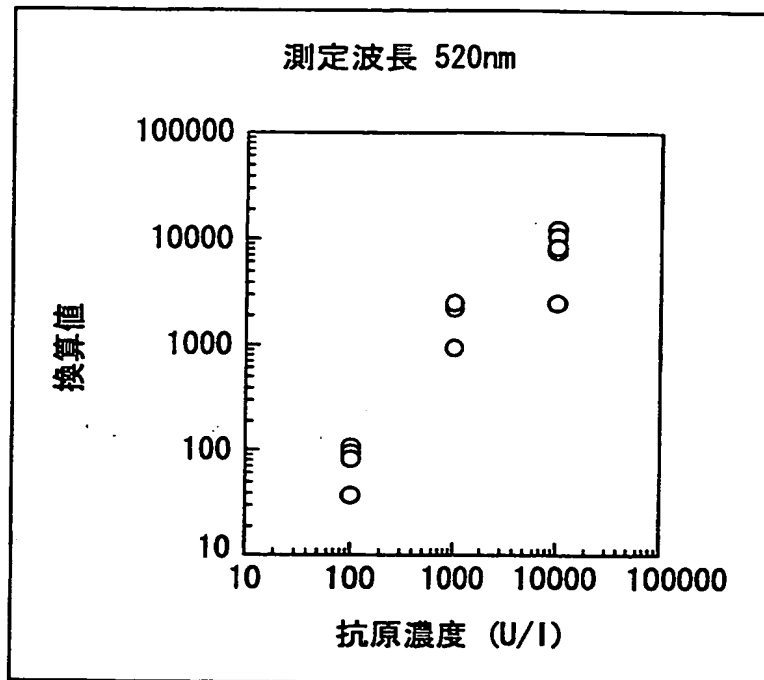


第2図

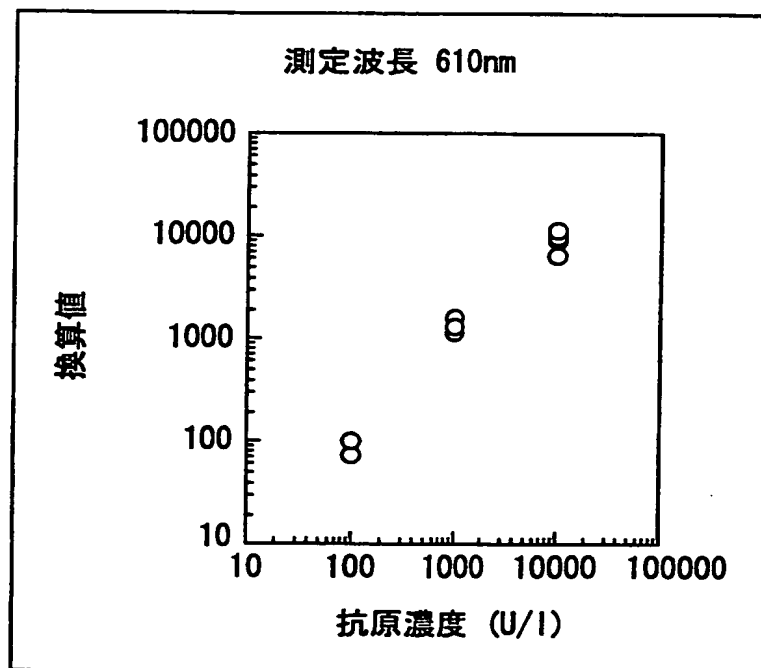


**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

第3(a) 図



第3(b) 図



**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/07447

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl<sup>7</sup> G01N33/543

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl<sup>7</sup> G01N33/543

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2001
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2001	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2001

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP, 10-132817, A (Matsushita Electric Ind. Co., Ltd.), 22 May, 1998 (22.05.98) (Family: none)	1-20
Y	JP, 9-119932, A (KDK CORPORATION), 06 May, 1997 (06.05.97) & EP, 761821, A & US, 5874229, A	1-20
Y	JP, 9-72904, A (KDK CORPORATION), 18 March, 1997 (18.03.97) (Family: none)	5,15

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

### \* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
23 January, 2001 (23.01.01)

Date of mailing of the international search report  
06 February, 2001 (06.02.01)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## 国際調査報告

国際出願番号 PCT/JPO0/07447

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))  
Int. Cl<sup>7</sup> G01N33/543

B. 調査を行った分野  
調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))  
Int. Cl<sup>7</sup> G01N33/543

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの  
 日本国実用新案公報 1922-1996年  
 日本国公開実用新案公報 1971-2001年  
 日本国登録実用新案公報 1994-2001年  
 日本国実用新案登録公報 1996-2001年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP, 10-132817, A (松下電器産業株式会社) 22. 5 月. 1998 (22. 05. 98) ファミリーなし	1-20
Y	JP, 9-119932, A (株式会社京都第一科学) 6. 5月. 1997 (06. 05. 97) & EP, 761821, A & US, 5874229, A	1-20

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献  
 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
 「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日  
23. 01. 01

国際調査報告の発送日  
06.02.01

国際調査機関の名称及びあて先  
 日本国特許庁 (ISA/JP)  
 郵便番号100-8915  
 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)  
 竹中靖典



2J 9507

電話番号 03-3581-1101 内線 3252

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	J P, 9-72904, A (株式会社京都第一科学) 18. 3月. 1997 (18. 03. 97) ファミリーなし	5, 15